

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Penyakit kanker menjadi salah satu penyakit yang menakutkan bagi banyak orang. Kanker merupakan suatu kondisi ketika sel telah kehilangan pengendalian dan mekanisme normalnya, sehingga mengalami pertumbuhan yang tidak normal, cepat dan tidak terkendali. Kanker payudara (*Carcinoma mammae*) adalah suatu penyakit neoplasma yang ganas yang berasal dari *parenchyma*. Kanker payudara menempati posisi kedua (12,10%) setelah kanker leher rahim (19,18 %). Selain jumlah kasus yang banyak, lebih dari 70% penderita kanker payudara di Indonesia ditemukan pada stadium lanjut (Anonim^a, 2010).

Beberapa usaha pengobatan kanker telah dilakukan dengan cara seperti pembedahan, radiasi, pemberian obat antikanker atau kemoterapi (Sukadja, 2000). Namun usaha-usaha ini belum memperoleh hasil yang memuaskan (Nafrialdi dan Gan, 1995), bahkan efek dari kegagalan pembedahan bisa menyebabkan kanker menyebar ke bagian tubuh lain dengan kondisi yang parah (Sudewo, 2004). Hal ini mendorong dikembangkannya obat baru yang mempunyai efek terapi yang baik (Katzung, 1995). Penelitian untuk menemukan obat antikanker antara lain dilakukan dengan menggali senyawa-senyawa alam yang berasal dari tumbuhan, khususnya yang selama ini telah dipercaya oleh sebagian masyarakat sebagai obat tradisional.

Senggani dan jati belanda merupakan tanaman yang dapat dikembangkan pemanfaatannya. Tanaman senggani jarang ditemukan, namun pada daerah tertentu sudah banyak dikenal sebagai obat penurun panas dan penghilang rasa sakit, penawar racun, peluruh haid, dan masih banyak lagi (Dalimartha, 1999). Jati belanda secara tradisional banyak digunakan sebagai teh penurun berat badan, dekok digunakan pada penderita malaria, diare, raja singa, menstimulasi kontraksi rahim, gangguan hati dan ginjal, lumatan digunakan pada pengobatan kulit dan wasir. Senyawa naringenin, kaempferol, kaempferol-3-Od-glukosida yang terdapat dalam bunga senggani memiliki khasiat sebagai antioksidan. Naringenin dan kaempferol-3-Od-glukosida juga memiliki aktivitas dalam menghambat proliferasi sel MCF7 (Susanti dkk., 2008). Ekstrak air daun jati belanda memperlihatkan potensi antioksidan pada konsentrasi 1000 ppm yang sebanding dengan vitamin E 200 ppm (Adi, 2007). Berdasarkan penelitian di atas, sangatlah menarik melakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun senggani dan daun jati belanda terhadap sel kanker payudara T47D.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak etanol daun senggani (*Melastomae affinis* D.Don) dan daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) memiliki efek sitotoksik terhadap sel kanker payudara T47D?

2. Golongan senyawa apa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun senggani dan daun jati belanda.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek sitotoksik ekstrak etanol daun senggani (*Melastomae affinis* D.Don) dan daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk.) terhadap sel kanker payudara T47D dengan menentukan nilai IC₅₀ menggunakan metode MTT serta mengetahui senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol daun senggani dan daun jati belanda.

D. Tinjauan Pustaka

1. Daun Senggani

a. Klasifikasi tanaman

Kedudukan tanaman senggani dalam sistem tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	:	Magnoliophyta	
Sub-divisi	:	Spermatophyta	
Kelas	:	Magniliopsida	
Ordo	:	Myrtales	
Famili	:	Melastomataceae	
Genus	:	Melastoma	
Species	:	<i>Melastomae affinis</i> D. Don	(Anonim ^b , 2009)

b. Nama lain

Senggani memiliki bermacam-macam nama di berbagai daerah seperti senggani, kluruk (Jawa), harendong (Sunda), senduduk (Melayu). Tanaman ini dikenal sebagai *singapore rhododendrom* di Inggris dan *yeh mu tan* di Cina (Hariana, 2006).

c. Morfologi daun

Daun senggani merupakan daun tunggal bertangkai pendek, rapuh; helaian daun utuh bentuk jorong atau bundar telur sampai memanjang, panjang 3 cm sampai 20 cm, lebar 1 cm sampai 8 cm, ujung umumnya runcing, pangkal membundar, pinggir rata, tulang-tulang cabang besar melengkung dari pangkal ke ujung, tulang-tulang cabang kecil menyirip, penulangan menonjol pada permukaan bawah. Kedua permukaan berambut banyak, permukaan atas kasar, permukaan bawah terasa lebih halus, warna kelabu kehijauan pucat (Anonim, 1995). Gambar 1 memperlihatkan morfologi dari daun senggani.



Gambar 1. Daun Senggani

d. Kandungan kimia

Daun senggani mengandung saponin, flavonoid, pseudouridin, uridin -5'- monofosfat dan sitidin 5'- monofosfat, dan tanin (Haron, 1993). Bunga

senggani mengandung senyawa naringenin, kaempferol, kaempferol-3-Od-glukosida (Susanti dkk., 2008).

e. Kegunaan tanaman

Tanaman senggani berkhasiat sebagai penurun panas, penghilang rasa sakit, peluruh urin, penghilang bengkak, pelancar aliran darah, dan penghenti pendarahan. Akar berkhasiat sebagai jamu setelah bersalin dan obat sakit gigi, daunnya bermanfaat untuk mengatasi diare, disentri, tonikum, keputihan, bahan pewarna, cacar, dan berguna untuk wanita setelah bersalin. Selain itu, senggani juga mengatasi gangguan pencernaan (dispepsia), hepatitis, keputihan, sariawan, mimisan, wasir berdarah, haid berlebihan, pendarahan rahim di luar waktu haid, bekuan dalam darah (thromboangitis), dan memperlancar air susu ibu (Hariana, 2006). Ekstrak metanol daun senggani mempunyai aktivitas anti bakteri terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Bacillus ereus* (Nikodemus dkk., 2007). Senyawa naringenin, kaempferol, kaempferol-3-Od-glukosida yang terdapat dalam bunga senggani memiliki khasiat sebagai antioksidan. Naringenin dan kaempferol-3-Od-glukosida juga memiliki aktivitas dalam menghambat proliferasi sel MCF7 (Susanti dkk., 2008).

2. Daun Jati Belanda

a. Klasifikasi tanaman

Kedudukan tanaman jati belanda dalam sistem tumbuhan diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi : Magnoliophyta

Kelas	:	Magniliopsida
Anak kelas	:	Dilleniidae
Ordo	:	Malvales
Famili	:	Sterculiaceae
Genus	:	Guazuma
Species	:	<i>Guazuma angustifolia</i> Lamk. (Anonim ^a , 2009)

b. Nama lain

Jati belanda memiliki bermacam-macam nama di berbagai daerah seperti jati blanda (Sumatra); jati londo, jatos landi (Jawa). Tanaman ini dikenal sebagai *Bastard cedar* di Inggris, *Orme d'amerique* di Perancis, *Guasima* di Meksiko (Backer dan Van Bakhuizen den Brink, 1965).

c. Morfologi daun

Daun jati belanda merupakan daun tunggal berhadapan. Bentuk daun bulat telur sampai lanset, ukuran helaian daun 4-22,5 cm x 2-10 cm, pangkal daun menyerong, berbentuk jantung, bagian ujung meruncing, tepi daun beringgit sampai bergerigi tidak tajam, permukaan daun bagian atas berambut jarang, permukaan bagian bawah berambut rapat. Panjang tangkai daun 5-25 mm; mempunyai daun penumpu berbentuk lanset atau berbentuk paku, panjang 3-6 mm. Tumbuhan berupa semak atau perdu sampai pohon, tinggi 10-20 m, percabangan simpodial (Anonim, 1978). Gambar 2 menunjukkan morfologi daun jati belanda.



Gambar 2. Daun Jati Belanda

d. Kandungan kimia

Seluruh bagian tanaman jati belanda mengandung senyawa aktif tanin dan mucilago. Kulit batang mengandung 10% zat lendir, 9,3% damar-damaran, 2,7% tanin, beberapa zat pahit, glukosa dan asam lemak, lendir, resin, tanin umumnya protoantosianidin: (-)-epikatekin, tilirosida. Daun jati belanda mengandung senyawa flavonoid, tannin, dan saponin (Adi, 2007).

e. Kegunaan

Secara tradisional digunakan sebagai teh penurun bobot badan, dekok digunakan pada penderita malaria, diare, raja singa, menstimulasi kontraksi rahim, gangguan hati dan ginjal. Lumatan digunakan pada pengobatan kulit dan wasir (Anonim^a, 2009). Ekstrak air dan ekstrak etil asetat daun jati belanda menghambat *herpes bovine virus* dan virus polio dengan metode *plague assay* dengan konsentrasi 5 µg/mL dengan daya hambat 99% dan 100% (Fellipe, 2006). Ekstrak air (1000 ppm) dan ekstrak etanol 70% (50, 200, dan 100 ppm) daun jati belanda memperlihatkan potensi antioksidan sebanding dengan vitamin E 200 ppm (Adi, 2007).

3. Kanker

a. Pendahuluan Kanker

Kanker merupakan segolongan penyakit yang ditandai dengan pembelahan sel yang tidak terkendali dan kemampuan sel-sel tersebut untuk menyerang jaringan biologis lainnya, baik dengan pertumbuhan langsung di jaringan yang bersebelahan (*invasi*) atau dengan migrasi sel ke tempat yang jauh (*metastatis*). Pertumbuhan yang tidak terkendali tersebut disebabkan kerusakan DNA, menyebabkan mutasi di gen vital yang mengontrol pembelahan sel. Beberapa mutasi mungkin dibutuhkan untuk mengubah sel normal menjadi sel kanker. Mutasi-mutasi tersebut sering diakibatkan agen kimia maupun fisik yang disebut karsinogen. Mutasi dapat terjadi secara spontan (diperoleh) ataupun diwariskan (mutasi *germline*) (Anonim^a, 2010).

Kanker dikenal dengan beragam jenis dan tidak hanya satu organ yang diserang namun lebih dari satu seperti limfe, darah, sumsum, dan otak (Tjay dan Rahardja, 1985). Kanker juga dapat tumbuh disemua sel jaringan tubuh, seperti kulit, sel hati, sel darah, sel otak, sel lambung, sel usus, sel paru, sel saluran kencing dan berbagai macam sel tubuh lain. Oleh karena itu, dikenal bermacam-macam jenis kanker menurut sel atau jaringan asalnya (Dalimartha, 2002).

Kanker payudara (*carcinoma mammae*) merupakan suatu penyakit neoplasma yang ganas yang berasal dari parenkim atau berasal dari kelenjar, saluran dan jaringan penunjang payudara, tetapi tidak termasuk kulit payudara. Penyebab spesifik kanker payudara masih belum diketahui, tetapi banyak

faktor yang diperkirakan mempunyai pengaruh terhadap terjadinya kanker payudara, diantaranya:

- 1) Faktor reproduksi, karakteristik reproduktif yang berhubungan dengan resiko terjadinya kanker payudara adalah nuliparitas, menarche pada umur muda, menopause pada umur lebih tua, dan kehamilan pertama pada umur tua.
- 2) Penggunaan hormon, hormon eksogen berhubungan dengan terjadinya kanker payudara.
- 3) Obesitas, terdapat hubungan yang positif antara berat badan dan bentuk tubuh dengan kanker payudara pada wanita pada pasca menopause.
- 4) Konsumsi lemak, diperkirakan sebagai suatu faktor resiko terjadinya kanker payudara.
- 5) Radiasi, dengan radiasi ionisasi selama atau sesudah pubertas meningkat terjadinya risiko kanker payudara.
- 6) Riwayat keluarga dan faktor genetik, terdapat peningkatan risiko keganasan ini pada wanita yang keluarganya menderita kanker payudara (Anonim^b, 2010)

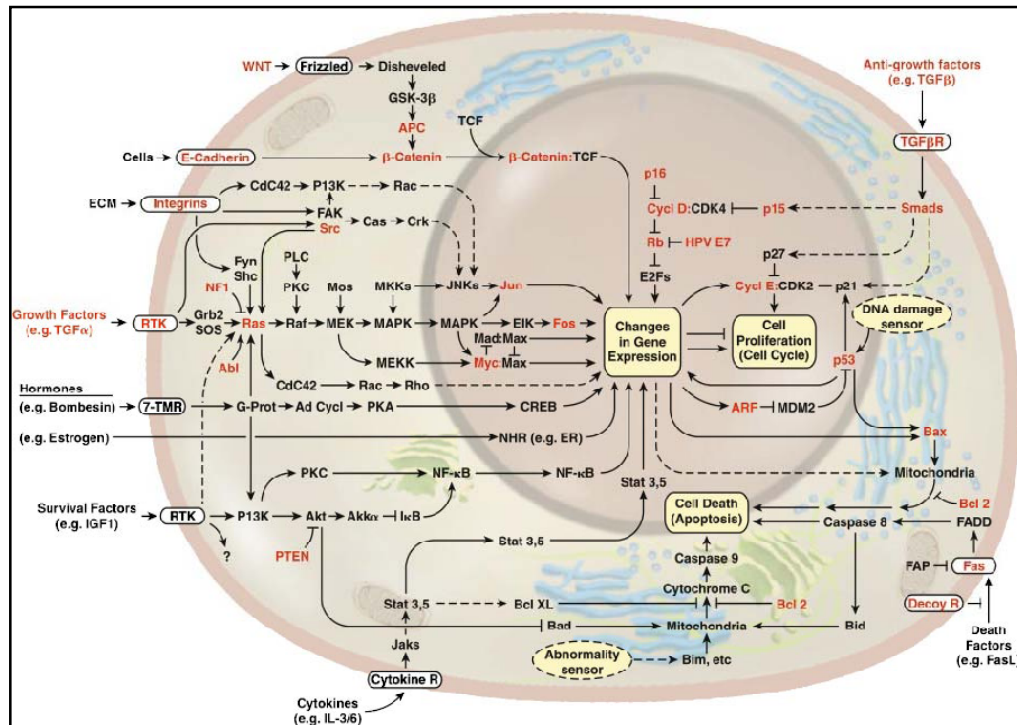
b. Sel kanker

Menurut Hanahan dan Weinberg (2000), sel kanker memiliki karakteristik sebagai berikut :

- 1) Sel kanker mampu mencukupi kebutuhan sinyal pertumbuhannya sendiri. Sinyal pertumbuhan diperlukan agar sel dapat terus membelah. Berbeda dari sel normal, sel kanker dapat tetap dan terus tumbuh.

- 2) Tidak sensitif terhadap sinyal anti pertumbuhan. Sel kanker tidak merespon adanya sinyal yang dapat menghentikan terjadinya pertumbuhan dan pembelahan sel. Dengan demikian, sel kanker dapat terus membelah.
- 3) Sel kanker mampu menghindar dari mekanisme apoptosis. Apoptosis merupakan program bunuh sel ketika sel tersebut mengalami kerusakan, baik struktural maupun fungsional, yang tidak dapat ditolerir lagi. Namun sel kanker dapat menghindar dari kematian dengan mengeblok jalur terjadinya apoptosis di dalam sel.
- 4) Sel kanker memiliki potensi tidak terbatas untuk mengadakan replikasi.
- 5) Sel kanker mampu menginduksi angiogenesis untuk mencukupi kebutuhannya akan oksigen dan nutrisi. Akan terbentuk cabang baru pada pembuluh darah yang menuju sel kanker yang kemudian akan mensuplai kebutuhan nutrisi dan oksigen dari sel kanker.
- 6) Sel kanker mampu menginvasi jaringan di sekitarnya dan membentuk anak sebar (Anonim, 2000).

Sel kanker memiliki kemampuan mencukupi sinyal pertumbuhannya sendiri dan tidak sensitif terhadap sinyal anti pertumbuhan. Sinyal tersebut yang mengakibatkan sel kanker tetap dan terus membelah. Gambar 3 memperlihatkan sirkulasi beberapa sinyal pertumbuhan dalam sel kanker.



Gambar 3. Diagram Sirkulasi Sinyal Pertumbuhan pada Sel Mamalia

c. Siklus sel

Sel kanker sering kali dikatakan sebagai sel yang berproliferasi lebih cepat dibandingkan dengan keadaan normalnya (King, 2000). Saat berproliferasi, genetik sel bisa berubah akibat adanya pengaruh agen karsinogen yang menyebabkan hilangnya penekanan (supresi) terhadap proses proliferasi sel. Perubahan sel menjadi ganas juga melibatkan gen-gen yang mengatur pertumbuhan sel. Akibatnya, sel berkembang tidak terkendali. Sel kanker dapat berada dalam tiga keadaan yaitu sedang membelah (siklus proliferasi), dalam keadaan istirahat (tidak membelah), dan secara permanen tidak membelah (Nafrialdi dan Gan, 1995).

Sel kanker yang sedang membelah terdapat dalam 4 fase (Gambar 1), yaitu :

1) Fase Pasca Mitosis (G1)

Fase ini dipersiapkan dalam suatu interval dalam proses pembelahan sel, dan dimulai sintesis asam deoksiribonukleat (DNA) (Mulyadi, 1997). Pada fase G1, sel anak baru berupa untai tunggal DNA yang terbentuk setelah mitosis akan tumbuh menjadi sel dewasa membentuk protein, enzim, dan sebagainya (Sukardja, 2000).

2) Fase Sintesis DNA (S)

Fase ini merupakan saat terjadinya replikasi DNA. Dalam fase S berlangsung perbaikan DNA yang dapat mencegah berkembangnya generasi kanker. Fase ini berlangsung kira-kira 6-8 jam (Mulyadi, 1997).

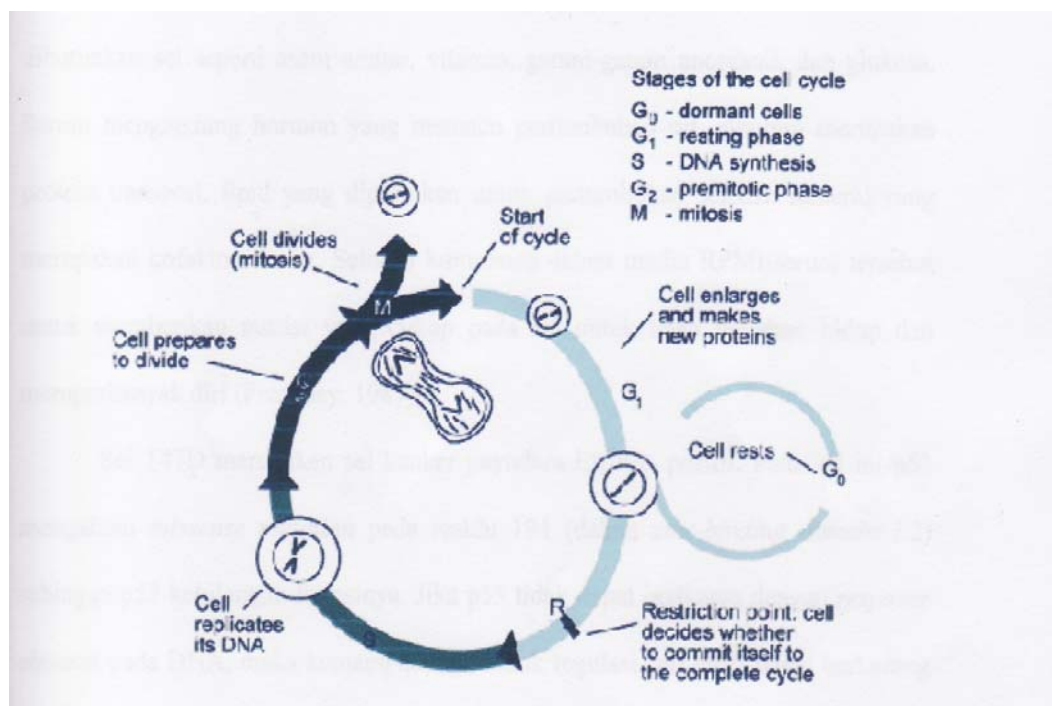
3) Fase Pra Mitosis (G2)

Sel yang telah masuk dalam fase pra mitosis ini memiliki ciri-ciri : sel berbentuk tetraploid, mengandung DNA dua kali lebih banyak daripada fase lain dan masih berlangsung sintesis RNA dan protein (Nafrialdi dan Gan, 1995).

4) Fase Mitosis

RNA dan protein berkurang secara tiba-tiba, berlangsung pemisahan sel menjadi dua sel anakan dengan sifat dan karakteristiknya yang sama induknya. Setelah itu sel dapat memasuki interfase untuk kembali memasuki fase G1, saat sel berproliferasi, atau memasuki fase istirahat (G0). Sel dalam fase G0 yang masih potensial untuk berproliferasi disebut sel klonogenik atau

sel induk (*stem cell*). Jadi yang menambah jumlah sel kanker ialah sel yang dalam siklus proliferasi dan dalam fase G₀ (Nafrialdi dan Gan, 1995). Berdasarkan morfologinya proses ini dapat dibagi menjadi 4 subfase yaitu : profase, metafase, anafase, dan telofase. Fase ini berlangsung sekitar 30-60 menit (Mulyadi, 1997).



Gambar 4. Siklus Sel. Siklus Sel Terdiri dari 4 Fase yaitu Fase-G₁ (Fase Pertumbuhan ke-1), Fase S (Fase Sintesis), Fase-G₂ (Fase Pertumbuhan ke-2), Fase-M (Fase Mitosis) (Anonim^b, 2010)

4. Terapi Kanker Payudara

Terapi untuk kanker payudara dilakukan dengan pembedahan, kemoterapi, terapi hormon, terapi radiasi, dan yang terbaru adalah terapi antibodi monoklonal. Pengobatan ini ditujukan untuk memusnahkan kanker

atau membatasi penyebaran penyakit serta menghilangkan gejala-gejalanya. Pembedahan biasanya diikuti dengan terapi tambahan (ajuvan) seperti radiasi, hormon atau kemoterapi yang dilakukan dengan sinar-X berintensitas tinggi untuk membunuh sel kanker yang tidak terangkat saat pembedahan. Efek samping pada kulit berupa gatal, kemerahan, kulit kering, dan kelelahan (Anonim^b, 2008).

Beberapa tumor payudara mengekspresikan banyak reseptor estrogen (RE) pada permukaan selnya. Pada jenis tumor ini, hormon estrogen wanita menunjang pertumbuhan tumor yang berikatan dengan RE dan mengatur siklus pertumbuhan sel. Terapi hormonal seperti tamoksifen atau penghambatan aromatase, menghambat efek pertumbuhan estrogen, dan dapat digunakan sebagai terapi adjuvan setelah operasi atau pada kanker payudara stadium lanjut (Anonim^b, 2008).

Kemoterapi biasanya digunakan pada stadium awal maupun stadium lanjut. Obat kemoterapi bisa digunakan secara tunggal atau dikombinasikan untuk terapi kanker payudara antara lain: golongan antrasiklin contoh: doksorubisin, epirubisin; golongan taxane contohnya: *paclitaxel*, *docetaxel*. Fluoropirimidin, contoh: *capecitabine*, *5-fluorouracil*; dan golongan alkilator contohnya: *cyclophosphamide* (Anonim^b, 2008).

5. Sel T47D

Sel kanker payudara T47D merupakan suatu sel yang morfologinya seperti sel epitel yaitu memperlihatkan proliferasi keganasan sel epitel yang membatasi duktus atau lobus payudara. Sel ini dapat ditumbuhkan dengan

medium penumbuh RPMI 1640 dengan *fetal bovine serum* 10% dan antibiotik bebas pada suhu 37°C dan dapat tumbuh secara kontinyu, menempel pada dasar *flask* (Anonim, 2008).

Sel T47D merupakan sel kanker yang mengekspresikan reseptor estrogen atau yang biasa disebut ER positif serta mengekspresikan p53 yang telah termutasi. Pada sel ini p53 mengalami *missense mutation* pada residu 194 (dalam *zinc-binding domain L2*) sehingga p53 kehilangan fungsinya. Jika p53 tidak dapat berikatan dengan respon elemen pada DNA, maka kemampuannya untuk regulasi dalam siklus sel akan berkurang atau hilang (Schafer *et al.*, 2000).

6. Sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik suatu senyawa dan memprediksi keberadaan obat sitotoksik baru dari bahan alam yang berpotensi sebagai antikanker. Dasar dari percobaan ini adalah sistem penetapan aktivitas biologi akan menghasilkan kurva dosis respon dan kriteria respon yang seharusnya menunjukkan hubungan lurus dengan jumlah sel. Informasi yang didapat dari kurva seharusnya berhubungan dengan efek *in vivo* dari obat sitotoksik yang sama (Burger, 1970).

Metode MTT assay merupakan salah satu metode yang dapat digunakan untuk uji sitotoksik. Metode ini mengukur proliferasi sel secara kolorimetrik. Metode MTT relatif cepat, sensitif, akurat dan dapat digunakan untuk mengukur sampel dalam jumlah besar. Metode ini berdasarkan pada

perubahan garam tetrazolium (*3-(4,5-dimethylthiazole-2-yl)-2,3-diphenyltetrazolium bromide*) menjadi formazan dalam mitokondria sel hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan *ELISA reader* dan berbanding lurus dengan jumlah sel hidup karena reduksi hanya terjadi ketika enzim reduktase mitokondria aktif (Doyle dan Griffiths, 2000).

Uji sitotoksik ini ditunjukkan dengan parameter nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel (Meiyanto, 2002). Semakin besar harga IC_{50} maka senyawa tersebut semakin tidak toksik.

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan data ilmiah tentang efek sitotoksik ekstrak etanol daun senggani dan daun jati belanda terhadap sel kanker payudara T47D dan kandungan kimianya.